

Изъ Казанскаго Бактеріологическаго Института (лабораторія
прив.-доц. В. А. Барыкина).

Avidität агглютининовъ.

(ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЕ СООБЩЕНІЕ).

П. И. Зарницынъ.

Многочисленными наблюденіями установлено, что иммунныя сыворотки при равномъ содержаніи единицъ антитоксина могутъ оказывать различное лечебное дѣйствіе и сыворотки съ меньшимъ количествомъ антитоксина порой будутъ лечить лучше, чѣмъ сыворотки высоко - антитоксическія. Это особенно убѣдительно выражено въ опытахъ Tizzoni, когда сыворотка въ 40,000 единицъ столбнячнаго антитоксина проявляла лучшій лечебный эффектъ, чѣмъ сыворотка содержащая 500,000 антитоксическихъ единицъ. Въ опытахъ Барыкина двѣ противодифтерійныя сыворотки обнаруживали одинаковое лечебное дѣйствіе, хотя одна изъ нихъ содержала вдвое больше антитоксина, чѣмъ другая.

Въ опытахъ Kraus'a и Doerr'a по мѣрѣ иммунизации козы дизентерійнымъ токсиномъ въ сывороткѣ ея наблюдалось не только нарастаніе единицъ антитоксина, но и самая нейтрализація яда протекала гораздо быстрѣй, энергичнѣй. Эта-то качественная сторона реакціи, большая или меньшая жадность, обнаруживаемая антитоксическими сыворотками при соединеніи ихъ съ токсиномъ, и получила названіе Avidität'a.

Еще легче, чѣмъ въ опытахъ съ антитоксинами, удастся наблюдать различный Avidität сыворотокъ въ другихъ реакціяхъ невосприимчивости. При этомъ изъ названныхъ реакцій на первомъ планѣ должна быть поставлена, какъ наиболѣе простая и демонстративная, реакція агглютинаціи. Съ этой реакціей и ставилось большинство опытовъ, направленныхъ къ изученію Avidität'a.

При помощи агглютинаціи было выяснено, что Avidität характеризуется различной быстротой теченія реакціи, различной

прочностью и полнотой, происходящаго соединенія агглютининовъ съ соотвѣтствующими имъ антигенами.

Scheller, титруя двѣ агглютинирующія сыворотки, показалъ напр., что въ одной изъ нихъ реакція окончивается черезъ $\frac{1}{4}$ часа, въ другой только черезъ сутки, и это не смотря на то, что первая сыворотка вдвое слабѣй по количеству единицъ агглютининовъ сравнительно съ второй. Мало того, если мы возьмемъ равныя количества единицъ агглютинина отъ двухъ сыворотокъ и приведемъ ихъ въ соприкосновеніе съ бактеріями, а затѣмъ, удаливши бактерій, опредѣлимъ титрованіемъ, какое количество агглютининовъ осталось не связаннымъ въ той и другой сывороткѣ, то цифры здѣсь могутъ оказаться различными. А произойдетъ это отъ того, что каждая изъ сыворотокъ будетъ вступать въ соединенія съ бактеріями съ различной жадностью. Болѣе авидная сыворотка, такимъ образомъ, успѣетъ связать съ бактеріями больше агглютининовъ, чѣмъ сыворотка слабая по Avidität'у.

Соединеніе агглютининовъ съ бактеріями въ свою очередь можетъ оказаться болѣе или меньшей прочности и, дѣйствуя на бактерій, адсорбировавшихъ агглютинины, высокой t^0 -рой, мы сумѣемъ учесть эту прочность, т. е. подъ вліяніемъ высокой t^0 -ры должно будетъ отщепиться отъ бактерій тѣмъ большее количество агглютинина, чѣмъ этотъ агглютининъ менѣе авиденъ.

Landschteinер и Reich напр. показали, что иммунныя сыворотки по сравненію съ нормальными образуютъ болѣе прочное соединеніе съ антигеномъ и потому труднѣе отщепляются отъ послѣдняго.

Такимъ образомъ, пользуясь вышеуказанными приѣмами, мы сможемъ составить себѣ довольно ясное представленіе объ индивидуальности данной сыворотки, поскольку она обнаруживается Avidität'омъ, жадностью послѣдней къ антигену.

Большинство работъ, посвященныхъ изученію Avidität'a, считалось только съ полнотой и прочностью наступившей реакціи, или совсѣмъ игнорируя быстроту ея теченія, или удѣляя этому качеству реакціи мало вниманія. Такъ даже въ многочисленныхъ работахъ Müller'a и его учениковъ вопросъ объ Avidität'ѣ агглютининовъ изучался исключительно со стороны полноты и прочности реакціи.

Müller и его ученики для оцѣнки Avidität'a агглютинирующихъ сыворотокъ прибѣгаютъ къ повторнымъ соприкосновеніямъ этихъ сыворотокъ съ бактеріями. Послѣ cadaго соприкосновенія они опредѣляютъ, сколько единицъ агглютининовъ осталось въ сывороткѣ не связанными съ бактеріями и насколько прочно произошло соединеніе съ бактерійными тѣлами адсорбированныхъ агглютининовъ. При такой постановкѣ опыта у Müller'a, какъ пра-

вило, наблюдалось уменьшение количества агглютининовъ въ сывороткѣ послѣ каждаго ея соприкосновенія съ бактеріями. Эти наблюденія по мнѣнію Müller'a устанавливаютъ, что въ одной и той-же сывороткѣ существуютъ фракціи агглютининовъ разной avidности, вступающія въ соединеніе съ бактеріями поочередно: сначала агглютинины болѣе avidныя, затѣмъ менѣе avidныя и т. д. Наиболѣе avidныя фракціи агглютининовъ соединяются съ антигеномъ наиболѣе полно и наиболѣе прочно.

Считая на основаніи своихъ опытовъ вопросъ о наличности въ сывороткахъ агглютининовъ различной avidности прочно установленнымъ, Müller полагаетъ, что при иммунизации выработка агглютининовъ происходитъ также отдѣльными фракціями, причемъ одни фракціи съ теченіемъ времени ослабѣваютъ въ своемъ Avidität'ѣ, а на ихъ мѣсто нарождаются новыя фракціи, обладающія все болѣе развитымъ Avidität'омъ. Одновременно существуя въ иммунныхъ сывороткахъ, эти антитѣла различной avidности, старыя и молодыя, и характеризуютъ собой индивидуальность данной сыворотки.

Производя многочисленныя наблюденія надъ состояніемъ сыворотокъ за время иммунизации и послѣ ея окончанія, Müller пришелъ къ выводу, что Avidität сыворотокъ нарастаетъ съ теченіемъ иммунизации и находится въ связи съ титромъ, т. е. съ абсолютнымъ количествомъ заключенныхъ въ сывороткахъ единицъ агглютинина. Согласно Müller'у сыворотки съ высокимъ титромъ должны обладать и высокимъ Avidität'омъ. Для Müller'a не было сомнѣній въ справедливости этихъ положеній, и большинство выводовъ представлено имъ въ окончательной формѣ. Но не смотря на полную убѣжденность автора, его объясненія далеко не для всѣхъ были убѣдительны.

Eisler, Eisler и Tzuru, Scheller на основаніи своихъ опытовъ приходятъ къ выводамъ діаметрально противоположнаго характера, отрицая зависимость между титромъ и Avidität'омъ иммунныхъ сыворотокъ. На первый взглядъ установить причину такихъ разногласій довольно трудно, но причина ихъ становится понятной какъ только методика, которой пользовался Müller и прочіе авторы, подвергается детальному разсмотрѣнію и экспериментальной проверкѣ. Методика эта, насколько можно судить по результатамъ нашихъ опытовъ, совершенно не выдерживаетъ критики.

Прежде всего останавливаетъ на себѣ вниманіе способъ пользованія матеріаломъ, который практикуется Muller'омъ. Для изученія нарастанія и паденія титра и Avidität'a въ теченіе и по окончаніи иммунизации Müller беретъ нѣсколько кроликовъ и даетъ среднія цифры достигнутого у нихъ титра и Avidität'a, совершенно игнорируя индивидуальность животнаго. Поскольку такія цифры

могутъ быть доказательны, судить не трудно. Въ нашихъ опытахъ одни кролики безъ особаго колебанія въ вѣсѣ при форсированной иммунизации переносили повторныя дозы въ одну культуру тифозныхъ бактерій, другіе погибали отъ первой дозы въ $1/20$ культуры. Одни кролики при одномъ и томъ же способѣ иммунизации давали титръ въ 30,000 единицъ агглютинина съ рѣзко выраженнымъ Avidität'омъ, другіе едва доводили титръ до 2000 единицъ агглютинина съ очень слабымъ Avidität'омъ. Отсюда видно, какое огромное значеніе имѣетъ при изученіи Avidität'a именно индивидуальность животнаго.

Индивидуальность животнаго, его большая, или меньшая гибкость въ выработкѣ невосприимчивости къ бактерійнымъ ядамъ неизбѣжно должна сказаться на различной длительности „отрицательной фазы“, наступающей послѣ cadaго иммунизаторнаго раздраженія. Такъ напр., въ нашихъ опытахъ у одной собаки послѣ инъекціи $1/20$ тифозной культуры на 5-й день сыворотка обнаружила отрицательную фазу съ паденіемъ титра и Avidität'a до нуля, у другой же при совершенно равныхъ условіяхъ опыта титръ и Aviditätъ поднялся.

Наконецъ, индивидуальность животнаго сказывается и еще на одномъ свойствѣ его сыворотки, именно на способности ея въ большихъ концентраціяхъ задерживать теченіе реакцій (зона Hemmung'a).

Какъ извѣстно (это хорошо демонстрировано опытами Landsteiner'a, Pauli и др.; въ томъ числѣ и нашими), реакціи невосприимчивости подобно коллоиднымъ реакціямъ имѣютъ свой „optimum“, отъ котораго въ ту и другую сторону идетъ пониженіе интенсивности реакціи.

Такимъ образомъ сыворотка, содержащая въ 1 куб. см. 1000 единицъ агглютинина, будетъ лучше всего склеивать свой антигенъ, когда она взята, напр., въ количествѣ одной единицы. Въ меньшихъ количествахъ, какъ и въ большихъ, сыворотка эта даетъ болѣе слабую реакцію, и можетъ случиться, что взятая въ количествѣ 1000—500 единицъ агглютинина эта сыворотка вовсе не дастъ реакціи.

Иными словами—въ каждой сывороткѣ, какъ извѣстной физико-молекулярной индивидуальности, на ряду съ ея иммунными свойствами нужно считаться и съ ея способностью къ задержкѣ реакціи, съ большимъ или меньшимъ развитіемъ въ ней зоны Hemmung'a.

Представимъ себѣ теперь, что мы вмѣстѣ съ Muller'омъ игнорируемъ явленія Hemmung'a.

Въ нашихъ рукахъ 2 агглютинирующія сыворотки обѣ въ 500 единицъ. Мы изучаемъ ихъ Aviditätъ по скорости теченія

реакціи. Одна изъ нихъ дастъ намъ уже черезъ 5 часовъ склеиваніе въ титрѣ 1:200, другая же не дастъ склеиванія черезъ этотъ промежутокъ времени и въ титрѣ=1:10. Мы бы должны были заключить вмѣстѣ съ Müller'омъ, что первая сыворотка гораздо авиднѣе второй. Но это наше заключеніе оказалось бы ошибочнымъ, потому что тѣ же сыворотки могли бы дать обратные результаты, если бы мы ихъ изучали въ иной средѣ и въ иныхъ разведеніяхъ.

Всѣ перечисленные обстоятельства ставятъ теорію Müller'a объ Avidität'ѣ сыворотокъ на болѣе чѣмъ шаткую почву. Но этимъ еще не исчерпывается дѣло. Игнорируя индивидуальность животныхъ съ сопутствующими ей отрицательной фазой и зоной Hemmung'a, Müller, какъ и другіе авторы, дѣлаютъ рядъ погрѣшностей въ самой методикѣ постановки опытовъ при изслѣдованіи Avidität'a.

У Müller'a во всѣхъ его опытахъ сыворотка повторно приводится въ соприкосновеніе съ бактеріями, и по степени ея истощенія Müller судитъ о состояніи Avidität'a. Онъ не считается со значеніемъ повторнаго пребыванія въ сывороткѣ бактерій, каковое конечно не можетъ быть безразличнымъ для хода реакціи. Извѣстно, что при продолжительномъ пребываніи въ сывороткѣ бактерій отъ послѣднихъ отщепляются нуклео протеины, что влечетъ за собой уже измѣненіе среды, въ которой совершается реакція. По нашимъ наблюденіямъ реакція можетъ такъ извратиться, что сыворотка послѣ повторнаго пребыванія въ ней бактерій, т.е. послѣ удаленія изъ нея нѣкотораго количества агглютининовъ, дастъ даже болѣе титръ, чѣмъ до соприкосновенія съ бактеріями.

Исходя изъ указанныхъ соображеній и фактовъ, мы поставили въ этомъ направленіи нѣсколько опытовъ опредѣленія количества агглютининовъ въ сывороткѣ, когда въ качествѣ среды мы пользовались то чистымъ растворомъ NaCl, то растворомъ NaCl, въ которомъ нѣкоторое время находились тифозныя палочки. Титры при этомъ получались различные. Оказалось, что достаточно недѣльнаго пребыванія бактерій въ NaCl, чтобы въ этой средѣ, содержащей послѣ удаленія бактерій ихъ протеины, реакція агглютинаціи протекала медленно и испытуемая сыворотка показала бы болѣе низкій титръ сравнительно съ титромъ, опредѣляемымъ для нея въ чистомъ NaCl.

Наоборотъ, пребываніе бактерій въ растворѣ NaCl въ теченіе двухъ недѣль измѣняетъ эту среду въ сторону, благоприятствующую агглютинаціи, и въ такой средѣ испытуемая сыворотка даетъ болѣе высокій титръ, чѣмъ въ чистомъ NaCl.

Если мы при этомъ допустимъ, что совершенно не можемъ учесть, когда и какъ проявится Hemmung, но что на его

проявленіе не можетъ не вліять повторное и продолжительное соприкосновение сыворотокъ съ бактеріями, то намъ станетъ понятнымъ ошибочность и послѣдняго допущенія Müller'омъ въ своей методикѣ—именно пользованія имъ эмульсіей бактерій, заготовляемой впрокъ.

Müller на протяженіи своихъ опытовъ пользовался однажды приготовленной эмульсіей и притомъ съ прибавленіемъ молочнаго сахара и карболовой кислоты.

Считаясь съ такимъ вліяніемъ на состояніе среды болѣе или менѣе продолжительнаго пребыванія въ ней бактерій, мы должны были признать, что изученіе Avidität'a по методу Müller'a не приводитъ къ цѣли и мы должны были вести свои изслѣдованія не только надъ полнотой и прочностью, но и надъ быстротой реакціи, гдѣ все сводится къ простому учитыванію теченія реакціи на протяженіи извѣстныхъ сроковъ времени.

Если устранить перечисленныя погрѣшности методики, легкой въ основаніе теоріи Müller'a объ Avidität'ѣ сыворотокъ и его связи съ ихъ титромъ, то на основаніи нашихъ опытовъ мы можемъ сдѣлать слѣдующіе выводы:

1. Связи постоянной и планомѣрной между титромъ и Avidität'омъ нѣтъ ни въ нормальномъ состояніи, ни при иммунизации. У нормальныхъ животныхъ титръ сыворотокъ можетъ стоять на равной высотѣ, а Aviditätъ разниться.

2. Нѣтъ зависимости между титромъ и скоростью теченія реакціи. Титръ можетъ оставаться на одной высотѣ, а скорость рѣзко пасть и наоборотъ: титръ нѣсколько понизиться а скорость быстро нарастать.

3. Связи между титромъ и Avidität'омъ по прочности и полнотѣ не существуетъ—титръ можетъ повышаться вмѣстѣ съ повышеніемъ полноты абсорбціи, онъ можетъ незначительно упасть и вызвать рѣзкое повышеніе абсорбціи.

4. Способъ иммунизации не вліяетъ на выработку сыворотокъ съ высокимъ Avidität'омъ.

5. Aviditätъ есть самобытное свойство сыворотки, характеризующее ея индивидуальность и обуславливающееся не однимъ свойствомъ антитѣла, но еще возможно въ большей степени измѣненіями среды, въ которой они находятся.

Выражаясь болѣе точно, мы должны были бы отбросить названіе Avidität'a, какъ понятіе въ настоящее время не поддающееся точному экспериментальному освѣщенію, и должны были бы ограничиться болѣе общимъ терминомъ, говоря объ индивидуальности нормальныхъ и невосприимчивыхъ сыворотокъ.
